

- KRISTAL, M. B. (1980): Placentophagia: A biobehavioral enigma (or De gustibus non disputandum est). *Neurosc. Beh. Rev.* 4, 141–150.
- PATENAUE-PILOTE, F.; OERTLI, E. F.; BOVET, J. (1980): A device for observing wild beavers in their lodge. *Can. J. Zool.* 58, 1210–1212.
- PETRI, C. (1935): Die Skelettentwicklung beim Meerschwein zugleich ein Beitrag zur vergleichenden Anatomie der Skelettentwicklung der Säuger. *Vjschr. Naturf. Ges. Zürich* 80, 157–240.
- PORTER, R. H.; DOANE, H. M. (1978): Studies of maternal behavior in spiny mice (*Acomys cahirinus*). *Z. Tierpsychol.* 47, 225–235.
- PRESCOTT, J. (1979): Description de la parturition d'un écureuil roux (*Tamiasciurus hudsonicus*) en captivité. *Biol. Behav.* 4, 89–96.
- RICHARDS, D. (1977): Beaversprite. My years building an animal sanctuary. San Francisco: Chronicle Books.
- ROOD, J. P. (1972): Ecological and behavioral comparisons of three genera of Argentine caviés. *Anim. Behav. Monogr.* 5, 1–83.
- ROSENBLATT, J. S.; LEHRMAN, D. S. (1963): Maternal behavior of the laboratory rat. In: *Maternal behavior in mammals*. Ed. by H. L. RHEINGOLD. New York: John Wiley, 8–57.
- SCHINZ, R. F. (1965): Drei weitere Beispiele für Nestflüchter und Nesthocker. *Fortschr. Geb. RöntgStrahl. NuklMed.* 102, 212–213.
- SHADLE, A. R. (1930): An unusual case of parturition in beavers. *J. Mammalogy* 11, 483–485.
- WILSSON, L. (1971): Observations and experiments on the ethology of the European beaver (*Castor fiber* L.). *Viltrevy* 8, 117–266.

Authors' address: FRANÇOISE PATENAUE and Dr. JACQUES BOVET, Département de Biologie, Université Laval, Québec, Qué. Canada G1K 7PA

Altersbedingte Veränderungen am lymphatischen System der Rötelmaus (*Clethrionomys glareolus*)

VON R. BUDDE, H.-E. SCHAEFER UND R. FISCHER

Pathologisches Institut der Universität zu Köln

Eingang des Ms. 5. 11. 1982

Abstract

Age-dependent variations in the lymphatic system of Clethrionomys glareolus

Studied were the distribution and frequency of alkaline phosphatase-positive lymphocytes in the peripheral blood and lymph node of 46 *Clethrionomys glareolus* for different ages. With increasing age there was a striking depletion of alkaline phosphatase-positive lymphocytes, which in this species represent the T lymphocyte subclass. The age-dependent reduction of enzyme-positive lymphocytes was particularly noticeable in the peripheral blood and lymphatic organs. In addition to the methods already available for age determination (length of the root of the 1st molar, vertebral body index), the frequency of alkaline phosphatase-positive lymphocytes in the peripheral blood represents a new tool for age determination in this species.

The diminution of T lymphocytes with increasing age supports the hypothesis of those authors who attribute a relevant life-limiting factor to the declining thymus function.

The age-dependent lymphocyte depletion correlates very well with the newly developed technique for age evaluating, i.e. the length of four following coccygeal vertebra in the proximal region.

Einleitung

In der freien Natur hängt die Lebenserwartung von Kleinsäugetieren von zahlreichen endo- und exogenen Faktoren ab. Bei den exogenen Einwirkungen sind vor allem Witterungseinflüsse, die Zahl der natürlichen Feinde, die Quantität und Qualität des Futters und die

Exposition gegenüber epidemischen Infektionskrankheiten anzuführen. An endogenen Einflüssen fällt bei manchen Species die Zahnabnutzung ins Gewicht (VON LEHMANN und RADBRUCH 1976). Aber auch unter optimalen Haltungsbedingungen im Labor ist die Lebenserwartung von Säugetieren relativ begrenzt. In der seit 1950 systematisch betriebenen Altersforschung interessierten das „Wie“ und „Warum“ des Alterungsprozesses sowie die Erkenntnis der maximal erreichbaren Lebensgrenze (HAYFLICK 1975; WALLACE 1977). Grundlegende Untersuchungen von HAYFLICK (1975) haben sich den zellularbiologischen Grundlagen des Alterns gewidmet. Mit Hilfe von Fibroblastenkulturen aus menschlichen Embryonen fand HAYFLICK (1975) die Proliferationskapazität der Zellen auf etwa 50 Populationsverdoppelungen limitiert und konnte so zeigen, daß die proliferative Kapazität differenzierter Zellen *in vitro* und *in vivo* begrenzt ist.

Allerdings stirbt der Organismus meist vor Erreichen dieser HAYFLICK-Grenze, so daß für den Eintritt des Todes zusätzliche Funktionseinschränkungen von Zellen oder Organen verantwortlich gemacht werden müssen, wobei in letzter Zeit ein wesentlicher lebensbegrenzender Faktor in der erlöschenden Funktion des Immunsystems gesehen wird. Die immunbiologischen Aufgaben des Organismus werden im wesentlichen durch zwei miteinander interagierende Lymphocytenpopulationen vollzogen.

Die thymusabhängige T-Lymphocytenklasse, die ihre funktionelle Prägung im Thymus erhält, konstituiert den größten Teil der ständig im Körper zirkulierenden Lymphocyten (etwa 60 bis 70 %) und ist vor allem verantwortlich für die sogenannte zellgebundene Immunabwehr von Mikroorganismen sowie für die Erkennung von körperfremdem Gewebe. In den lymphatischen Organen siedeln sich diese T-Lymphocyten vor allem in der tiefen Rinde (Paracortex) des Lymphknotens und in den periarteriolen Scheiden der Milz an (GOWANS und MCGREGOR 1965; GOLDSCHNEIDER und MCGREGOR 1973; KERSEY und GAJL-PECZALSKA 1975; GUPTA und GOOD 1978). Das knochenmark-(bone marrow-)abhängige B-Lymphocytensystem, das wahrscheinlich im Knochenmark die primäre funktionelle Ausrichtung erfährt (bei Vögeln erfolgt die primäre Prägung in der Bursa Fabricii), ist vor allem für die Produktion von Immunglobulinen, also für die humorale Infektabwehr, verantwortlich. In dieser Funktion werden die B-Lymphocyten vielfach durch Subpopulationen der T-Lymphocyten unterstützt (sogenannte Helferzellen). Angesiedelt ist diese Zellkategorie vornehmlich in den Keimzentren der lymphatischen Organe, in der hohen Rinde (Cortex) und im Mark des Lymphknotens sowie in dem der roten Pulpa benachbarten Areal der weißen Milzpulpa (GOWANS und MCGREGOR 1965; GOLDSCHNEIDER und MCGREGOR 1973; KERSEY und GAJL-PECZALSKA 1975). Im Rahmen der Altersforschung durchgeführte Studien deckten zahlreiche Störungen im thymusabhängigen Bereich des Immunsystems bei alten Menschen und Tieren auf (INKELES et al. 1977; WEKSLER und HÜTTEROTH 1974), möglicherweise durch Erreichen der Hayflick-Grenze seitens der sich rasch teilenden Thymocyten (BURNET 1970). Insbesondere wird in diesem Zusammenhang auf einen Defekt verschiedener T-Zellfunktionen hingewiesen (ANDERSEN 1972; CALLARD und BASTEN 1977; GIRARD et al. 1977; RODEY et al. 1971; WALDORF et al. 1968). Neben Einschränkungen der Zellfunktionen ist die altersbedingte Insuffizienz des T-Zellsystems anscheinend auch auf eine Depletion an T-Lymphocyten im Organismus zurückzuführen, wobei wegen technischer Schwierigkeiten, T-Lymphocyten selektiv zu markieren, die publizierten Ergebnisse kontrovers sind (ALEXOPOULOS und BABITIS 1976; AUGENER et al. 1974; COBLEIGH et al. 1980; DEL POZO PEREZ et al. 1973; HEILMANN und REX 1977; REDDY und KONG-OO 1979; ROSENTHAL und STEINMANN 1978; GOIDL et al. 1976).

Wie von SCHAEFER und FISCHER (1973) beschrieben, zeichnen sich die Lymphocyten der Rötelmaus (*Clethrionomys glareolus*) dadurch aus, daß sie zu über 50 % positiv beim Nachweis des Enzyms alkalische Phosphatase (ALP) reagieren. Weitergehende Untersuchungen (BUDDE 1976) mit Hilfe der neonatalen Thymektomietechnik erbrachten den Beweis, daß diese ALP-positiven Lymphocyten weitgehend T-Lymphocyten entsprechen.

Der an Ausstrichen und Gefrierschnitten leicht durchführbare ALP-Nachweis ermöglicht einen raschen Überblick über die Frequenz und Lokalisation von T-Lymphocyten.

Wir haben daher bei der Rötelmaus überprüft, ob der Alterungsprozeß dieser Spezies mit einer Verminderung der T-Lymphocytenhäufigkeit verbunden ist. Da die Untersuchung sich auf wild lebende Tiere bezieht, war es notwendig, das Alter durch altersabhängige Skelettmerkmale zu bestimmen. Dazu eignet sich einmal die Ausmessung der Zahnwurzel des ersten Molaren (M 1), wobei das Alter, klassenweise in Sprüngen von 2 bis 3 Monaten zusammengefaßt, ausgedrückt wird (WASILEWSKI 1952). Da die Rötelmaus keine feste Wachstumsgrenze aufweist, kann das Alter auch mit dem von HAGEN (1956) entwickelten Schwanzwirbelindex bestimmt werden. Bei diesem Verfahren wird die Länge von 2 Wirbelkörpern durch die Dicke der dazwischen gelegenen Zwischenwirbelscheibe dividiert. Um eine Ausmessung der bei dieser Technik anfallenden kleinen Strecken zu vermeiden, wählten wir als Parameter für das Alter die Länge 4 nebeneinander liegender Schwanzwirbelkörper einschließlich der drei eingeschlossenen Disci intervertebrales.

Material und Methode

Clethrionomys glareolus wurde im Spätherbst in den Mischwäldern bei Kerpen nahe der Autobahnausfahrt Kerpen (Autobahn Köln-Aachen) mit Fallen gefangen.

Insgesamt 46 Tiere unterschiedlichen Alters und Geschlechts wurden ausgewertet. Nach Dekapitation in Äthernarkose diente das dabei gewonnene Blut zur Anfertigung von Ausstrichen und nach Verdünnung in Türckscher Lösung zur Leukocytenzählung in der Zeiss-Thoma-Kammer. Von 2 bis 3 paraortalen Lymphknoten wurden Kryostatsschnitte von 4 μ Dicke angefertigt.

Die Blutausstriche färbten wir mit May-Grünwald- und Giemsa-Lösung nach Pappenheim, die Gefrierschnitte mit Hämalaun nach Mayer und wässrigem Eosin (Methoden s. ROMEIS 1948). Außerdem führten wir an den Blutausstrichen und Kryostatsschnitten den Enzymnachweis der alkalischen Phosphatase (ALP) nach KAPLOW (1955) durch.

Die Pappenheimfärbung der Blutausstriche diente zur Auszählung des Differentialblutbildes, die Hämalaun-Eosinfärbung der Gefrierschnitte ermöglichte eine Orientierung innerhalb der Lymphknotenstruktur, wobei besonders die Zelldichte und Flächenausdehnung der hohen und tiefen Rinde Beachtung fand. Mit Hilfe der ALP ermittelten wir den prozentualen Gehalt der ALP-positiven Lymphocyten, jeweils getrennt in hoher und tiefer Rinde, durch Auswertung von 300 Zellen. In gleicher Weise verfahren wir mit den Blutausstrichen.

Zur Bestimmung des Alters wurden an den getöteten Rötelmäusen die Schwanzwirbel einschließlich des Beckens mit einem Mammographie-Röntgengerät (Siemens) geröntgt. Auf den Röntgenaufnahmen wurde die Länge von vier nebeneinander liegenden Schwanzwirbelkörpern einschließlich der eingeschlossenen Zwischenwirbelscheiben mit einem Binokularmikroskop bei kleiner Vergrößerung ausgemessen (Abb. 1). Der Abstand wurde als „4 SWK-Strecke“ bezeichnet. Die Bestimmung erfolgte im proximalen Teil der Schwanzwirbelsäule dort, wo die Wirbelkörper im Röntgenbild nicht von anderen Organen überlagert werden. Außerdem ermittelten wir ebenfalls unter dem Binokularmikroskop den Hagenschen Wirbelkörperindex (HAGEN 1956) und die Wurzellänge des ersten Molaren (WASILEWSKI 1952). Folgende Parameter wurden gegenübergestellt:

- | | |
|---|-----------------|
| 1. Gesamtlymphocytenzahl pro mm ³ Blut | – 4 SWK-Strecke |
| 2. Gesamtzahl ALP-positiver Lymphocyten pro mm ³ Blut | – 4 SWK-Strecke |
| 3. Prozentsatz ALP-positiver Lymphocyten in der tiefen Lymphknotenrinde | – 4 SWK-Strecke |
| 4. Prozentsatz ALP-positiver Lymphocyten in der hohen Lymphknotenrinde | – 4 SWK-Strecke |

Ergebnisse

Beim Vergleich des von uns benutzten Parameters zur Bestimmung des Alters (4 SWK-Strecke) mit der Zahnwurzellänge und dem Hagenschen Wirbelkörperindex konnte in beiden Fällen eine positive Korrelation berechnet werden mit einer statistischen Signifikanz von $p < 0,001$ für den Vergleich 4 SWK-Strecke/Zahnwurzellänge (Korrelationskoeffizient = $-0,725$) und $p = 0,05-0,02$ für den zwischen 4 SWK-Strecke und dem Wirbelkörperindex (Korrelationskoeffizient = $0,382$).

Bei jung-adulten Rötelmäusen (4 SWK-Strecke $< 14,5$ mm) liegt der Prozentsatz an



Abb. 1. Röntgenaufnahmen des Becken-Schwanz-Bereiches zweier Rötelmäuse. Links: jung-adultes Tier; rechts: altes Tier. Deutliche Zunahme der 4 SWK-Strecke (Länge von 4 benachbarten Schwanzwirbelkörpern)

ALP-positiven Lymphocyten (Abb. 2) im peripheren Blut bei etwa 55 %. Außer T-Lymphocyten besitzen im Blut nur noch neutrophile Granulocyten eine positive Aktivität dieses Enzyms; die Unterscheidung dieser Zellklassen bereitet jedoch keine Schwierigkeiten, da die Granulocyten durch ihre segmentierte Kernform leicht von den kleinen Lymphocyten mit rundovalem Kern zu differenzieren sind. Eosinophile und basophile Granulocyten besitzen ebenso wie Monocyten und Erythrocyten keine alkalische Phosphatase.



Abb. 2. Gegenüberstellung eines alkalische Phosphatase-positiven (links) und eines alkalische Phosphatase-negativen (rechts) Lymphocyten aus dem peripheren Blut einer Rötelmaus. Cytochemischer Nachweis der alkalischen Phosphatase ohne Kerngegenfärbung (1060 \times)

Abb. 3 stellt graphisch die Korrelation zwischen der 4 SWK-Strecke und der Absolutzahl der Lymphocyten pro mm³ Blut dar. Mit zunehmender 4 SWK-Strecke nimmt die Lymphocytenzahl kontinuierlich ab. In gleicher Weise sinkt auch die Gesamtzahl der ALP-positiven Lymphocyten (Abb. 4) im peripheren Blut mit zunehmender 4 SWK-Strecke. Sämtliche Korrelationen sind statistisch hoch signifikant ($p < 0,001$).

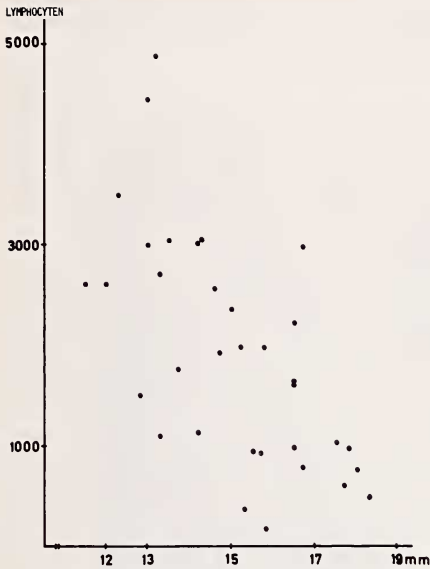


Abb. 3. Absolutzahl der Lymphocyten pro mm^3 Blut (Ordinate) im Verhältnis zur Länge von 4 Schwanzwirbeln in mm (Abszisse) als Altersparameter

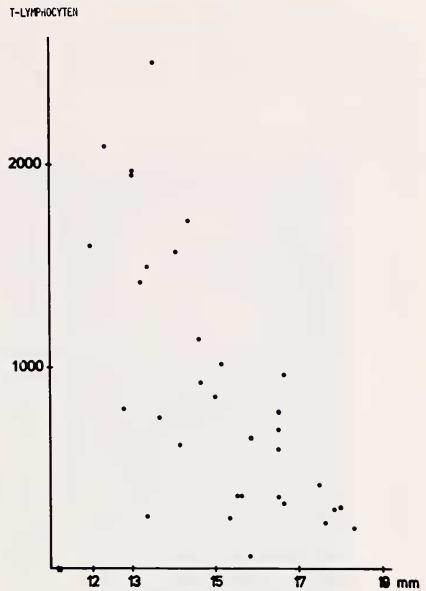


Abb. 4. Absolutzahl der T-Lymphocyten pro mm^3 Blut (Ordinate) im Verhältnis zur Länge von 4 Schwanzwirbeln in mm (Abszisse) als Altersparameter

Bei der Rötelmaus setzt sich das Lymphknotengewebe von außen nach innen aus folgenden Gebieten zusammen: Kapsel, Marginal- oder Randsinus, hohe Rinde (Cortex), mittlere und tiefe Rinde (Paracortex) und Markregion. Bei dieser Gliederung stützen sich die Keimzentren als Bestandteil der hohen Rinde in die mittlere Rinde vor und werden von den zum Paracortex gehörenden Mantelwällen umgeben. Der Paracortex zeichnet sich morphologisch außer durch seine Lage durch postkapilläre Venolen mit hoch-kubischem Endothel aus. Cortex, Keimzentren und Markregion konstituieren bei dieser Gliederung das B-Kompartiment, die übrigen Zonen (Paracortex einschließlich perifollikulärer Lymphocytenwall) das T-Kompartiment. In letzterem besitzen fast 100 % der Lymphocyten eine positive ALP-Aktivität (Abb. 5). Eine ähnlich hohe Dichte dieser Zellkategorie wird auch in der Thymusrinde, dem Ursprungsort dieser Zellen, erreicht (Abb. 6). In den B-abhängigen Arealen des Lymphknotens weisen dagegen nur 70 % der Lymphocyten diese Enzymausstattung auf (Abb. 5).

Während junge Rötelmäuse einen besonders hohen Lymphocytengehalt in Milz und Lymphknoten zeigen, treten mit zunehmender Seneszenz (4 SWK-Strecke $> 16,5$ mm) sukzessiv Veränderungen überwiegend atrophisch-regressiver Natur ein. Die Gesamtgröße des Lymphknotens nimmt merklich ab; das lymphatische Parenchym wird teilweise durch Fettgewebe ersetzt. Keimzentren entwickeln sich seltener, und auch die jeweilige Zelldichte reduziert sich. Die postkapillären Venolen weisen mehr und mehr eine Wandverdickung und Sklerose auf.

Die zelluläre Zusammensetzung der B-abhängigen Zonen ist ebenfalls einem kontinuierlichen Wandel unterzogen, wobei neben einer Reduktion in ihrer volumenmäßigen Ausdehnung eine zelluläre Verarmung zu beobachten ist, die hauptsächlich zu Lasten der ALP-positiven Lymphocyten geht (Abb. 7). Im hohen Alter sind hier nur etwa 10 bis 20 % enzympositive Lymphocyten zu finden (in der Adoleszenz etwa 70 %) (Abb. 8).

Im thymusabhängigen Paracortex zeigen sich Altersveränderungen vornehmlich durch eine deutliche Reduktion seiner Volumenausdehnung. Der prozentuale T-Lymphocytengehalt pro Flächeneinheit bleibt dagegen annähernd gleich (Abb. 9).

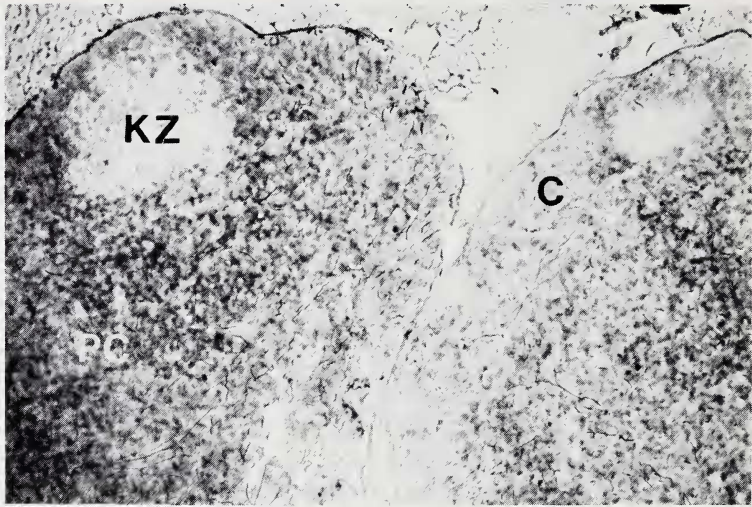


Abb. 5. Lymphknotenausschnitt einer jung-adulten Rötelmaus. Histochemischer Nachweis der alkalischen Phosphatase ohne Kerngegenfärbung. Zusätzlich Retikulinfaserdarstellung mittels Silberimpregnation. Im Paracortex (PC) reagieren fast 100% der Lymphocyten alkalische Phosphatase-positiv, während im Cortex (C) und Keimzentrum (KZ) die meisten Lymphocyten keine Enzymaktivität aufweisen (105 \times)

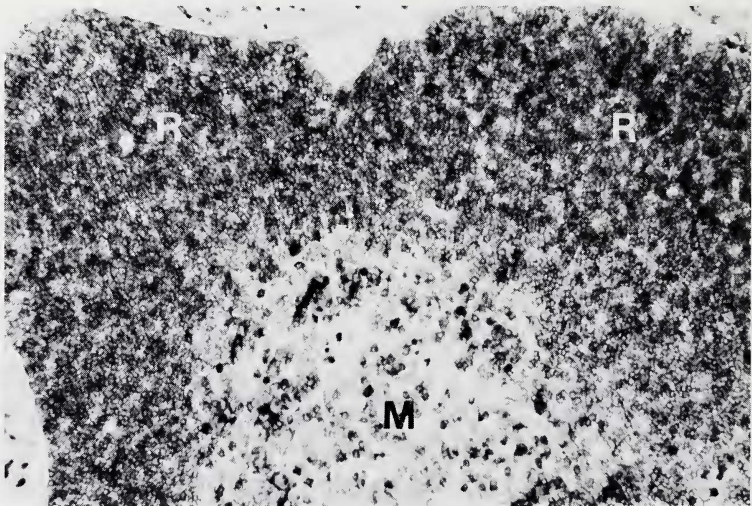


Abb. 6. Thymus einer jung-adulten Rötelmaus. Reaktion zum Nachweis der alkalischen Phosphatase ohne Gegenfärbung der Kerne. In der Rinde (R) zeigen fast alle der dicht gelagerten Lymphocyten eine positive Enzymaktivität, während im Mark (M) nur etwa 70% der Lymphocyten diese Fermentausstattung aufweisen (266 \times)

Diskussion

Die Altersbestimmung wild lebender Tiere, wie in unserem Fall *Clethrionomys glareolus*, stützt sich auf Parameter, die einer altersabhängigen Variation unterliegen. Im allgemeinen handelt es sich dabei um Messungen der Zahnwurzellänge oder um die Altersbestimmung durch Längenmessungen am Schädel oder übrigen Skelettsystem (WASILEWSKI 1952; HAGEN 1956; MAZÁK 1963).

Da die Rötelmaus sich durch keine fest umschriebene Wachstumsgrenze auszeichnet (HAGEN 1956), sondern auch in der Adultphase noch ein langsames Körperwachstum zeigt, wählten wir zur Determinierung des Alters die Längenmessung von vier nebeneinander liegenden Schwanzwirbelkörpern (SWK), die ebenfalls im Lebensverlauf eine langsame Längenzunahme erfahren. Wie die statistische Analyse zeigt, korreliert der Wert der 4 SWK-Strecke signifikant mit einigen bekannten Methoden der Altersbestimmung, nämlich mit der Zahnwurzellänge des ersten Molaren (M 1) und mit dem Hagenschens Wirbelkörperindex. Die Bestimmung der 4 SWK-Strecke kann somit als geeignete Methode zur Altersbestimmung der Rötelmaus angesehen werden. Gegenüber dem von HAGEN (1956) beschriebenen Wirbelkörperindex besitzt sie den Vorteil, nur einen Meßvorgang, der auch an enthäuteten Schwänzen im durchscheinenden Licht durchführbar ist, zu benötigen. Außerdem wird eine größere Strecke gemessen, im Gegensatz zu zwei kleinen Abständen beim Wirbelkörperindex, so daß der Meßfehler verkleinert wird. Die bei der Bestimmung des 4 SWK-Strecke miterfaßten Zwischenwirbelscheiben haben auf das Meßergebnis keinen wesentlichen Einfluß, da ihre Größe im Laufe des adulten Lebens und im Senium sich nicht verändert (HAGEN 1956).

Die von uns angegebene Methode der Längenbestimmung der 4 SWK-Strecke zur Determinierung des Alters bei *Clethrionomys glareolus* muß daher als genauer und einfach durchzuführender Parameter betrachtet werden.

Mit zunehmendem Alter sinkt bei der Rötelmaus einmal die Absolutzahl der Lymphocyten im peripheren Blut stark ab (Abb. 3). Eine annähernd gleiche Regressionskurve findet sich, wenn die Absolutzahl der T-Lymphocyten (Abb. 4) im Blut gegen die 4 SWK-Strecke aufgetragen wird. Daraus geht eindeutig hervor, daß bei der Rötelmaus, im Gegensatz zu manch anderen Arten (KRC und MATOUSKOVA 1981; KROGRUD und PERKINS 1977), mit zunehmender Seneszenz eine Lymphocytenverarmung im Blut einsetzt, die fast ausschließlich zu Lasten der T-Lymphocyten geht. Diese in der Literatur (BÜRKLE et al. 1976; DEL POZO PEREZ et al. 1973; GIRARD et al. 1977; KAY und MAKINODAN 1976) unter Verwendung anderer Methoden bei anderen Tierespezies und beim Menschen beschriebene T-Zellreduktion kann am ehesten auf die im Alter langsam erlöschende Thymusfunktion zurückgeführt werden (AUGENER et al. 1974; BURNET 1970; CAROSELLA et al. 1974; KAY und MAKINODAN 1976). Offenbar bedingt die reduzierte Thymosinbildung im Thymus (AUGENER et al. 1974) einen mangelnden Proliferationsstimulus für T-Lymphocyten, während die Zahl der B-Lymphocyten gleich bleibt oder sogar zunimmt (AUGENER et al. 1974; GIRARD et al. 1977; GUPTA und GOOD 1979; REDDY und KONG-OO 1979). Auch im Lymphknoten ist diese altersabhängige Verarmung des Organismus an T-Lymphocyten faßbar. Bei alten Tieren sind die Lymphknoten durch eine generalisierte Atrophie aller Regionen gekennzeichnet. Zwar reduziert sich die Zelldichte in der mittleren und tiefen Rinde (Paracortex) nur unwesentlich; auch die zelluläre Zusammensetzung weist hier keine signifikanten Alterationen auf (Abb. 9), aber die volumenmäßige Verkleinerung dieser Zone ist nicht zu übersehen. Auch in den B-Zellzonen des Lymphknotens (hohe Rinde, Mark) ist in der Seneszenz ein starker Wandel zu verzeichnen. Hier kommt es neben der altersbedingten volumenmäßigen Verkleinerung der Zonen mit vikariierender Fettgewebshyperplasie (Mark) zusätzlich noch zu einer hoch signifikanten Depletion an ALP-positiven T-Lymphocyten (Abb. 7).

T-LYMPHOCYTEN

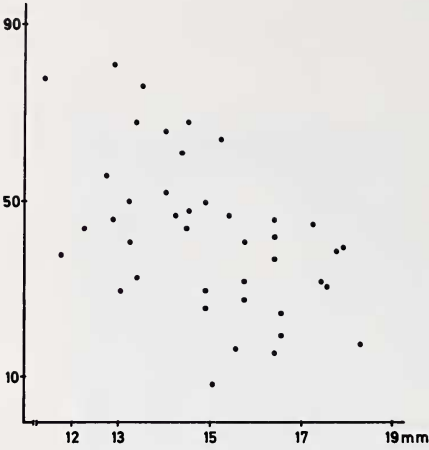


Abb. 7. Prozentsatz T-Lymphocyten in der hohen Lymphknotenrinde (Ordinate) im Verhältnis zur Länge von 4 Schwanzwirbeln in mm (Abszisse) als Altersparameter

T-LYMPHOCYTEN

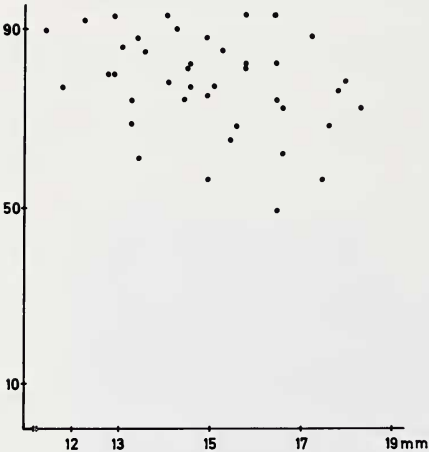


Abb. 8. Ausschnitte zweier Lymphknoten aus der Übergangszone von hoher (im Bild oben) und tiefer (im Bild unten) Rinde. Histochemischer Nachweis der alkalischen Phosphatase ohne Gegenfärbung der Kerne. Links: jung-adultes Tier; rechts: altes Tier. Deutliche Verarmung der hohen Lymphknotenrinde an alkalische Phosphatase-positive Lymphocyten im Alter (430 \times)

Abb. 9. (links). Prozentsatz T-Lymphocyten in der tiefen Lymphknotenrinde (Ordinate) im Verhältnis zur Länge von 4 Schwanzwirbeln in mm (Abszisse) als Altersparameter

Bei jung-adulten Tieren finden sich im Cortex und Mark neben den ortsständigen B-Lymphocyten noch etwa 70% T-Lymphocyten (Abb. 7), denen eine Helferzellfunktion zugeschrieben werden kann und welche entweder mit der afferenten Lymphe über den Randsinus oder aus dem Blut über die postkapillären Venolen rezirkulierend in diese Areale einwandern. An diesen Orten erfolgt offenbar die immunologisch essentielle Interaktion zwischen dem B- und T-Lymphocytensystem (Helferzellfunktion). Diese rezirkulierenden Zellen, die auch im Blut den Hauptanteil der T-Lymphocyten ausmachen, nehmen, wie auch schon in anderen Modellen beobachtet, im Alterscortex und Mark auf etwa 20% ab und sind somit für die Verarmung an T-Lymphocyten hauptverantwortlich (COBLEIGH et al. 1980; GIRARD et al. 1977; GUPTA und GOOD 1979). Eine numerische Reduktion des B-Lymphocytensystems fällt dabei kaum ins Gewicht (GUPTA und GOOD

1979; HELLMANN und REX 1982). Diese T-Lymphocytenverminderung vor allem mit Helfer- und Effektorfunktionen kann zwanglos jene Fehlsteuerungen des Immunsystems erklären, die im Alter beschrieben werden. Vor allem die mit dieser Insuffizienz des T-Lymphocytensystems verbundene Störung der Infektabwehr dürfte für frei lebende Tiere von lebensbegrenzender Bedeutung sein. Zumindest stellt die Reduktion der ALP-positiven Lymphocyten bei der Rötelmaus einen gut reproduzierbaren Altersparameter dar. Ob diese bei *Clethrionomys glareolus* erhobenen Befunde auch auf andere frei lebende Spezies übertragen werden dürfen, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Zusammenfassung

Bei *Clethrionomys glareolus* tritt mit zunehmendem Alter eine beträchtliche Verminderung der T-Lymphocyten auf, die bei dieser Spezies selektiv durch das Enzym alkalische Phosphatase gekennzeichnet sind. Diese altersabhängige Reduktion an enzympositiven Lymphocyten, die sich vor allem im peripheren Blut und in den lymphatischen Organen manifestiert, kann neben den bisher bekannten Methoden der Altersbestimmung (Zahnwurzellänge, Schädelldänge, Wirbelkörperindex) zur Altersdeterminierung berücksichtigt werden.

Die festgestellte Reduktion der T-Lymphocyten in der Seneszenz unterstützt die Hypothese mancher Autoren, die einen wesentlichen lebensbegrenzenden Faktor in der Erlöschung der Thymusfunktion sehen, d.h. dem Thymus eine wichtige Rolle als „biologische Uhr“ zuschreiben. Die beschriebene Lymphocytenverarmung korreliert sehr gut mit einer von uns erstmalig vorgestellten Methode der Altersbestimmung, nämlich der Länge von 4 benachbarten Schwanzwirbelkörpern einschließlich der eingeschlossenen Zwischenwirbelscheiben (4 SWK-Strecke).

Literatur

- ALEXOPOULOS, C.; BABITIS, P. (1976): Age dependence of T-lymphocytes. *Lancet* 1, 426.
- ANDERSEN, E. (1972): The influence of age on transplantation immunity. Reactivity to normal lymphocyte transfer at different ages. *Scand. J. Haematol.* 9, 621–624.
- AUGENER, W.; COHNEN, G.; REUTER, A.; BRITTINGER, G. (1974): Decrease of T lymphocytes during ageing. *Lancet* 1, 1164.
- BUDDE, R. (1976): Untersuchungen zur fermentcytochemischen Differenzierung von T- und B-Lymphocyten bei *Clethrionomys glareolus*. Inaug. Diss. Med. Fak. Universität Köln.
- BÜRKE, P. A.; TÖNNESMANN, E.; AHNEFELD, S.; NOBBE, F.; FEDERLIN, K. (1976): Erfahrungen mit dem DNCB-Hauttest bei gesunden Personen verschiedener Altersgruppen. *Z. Immun. Forsch.* 151, 153–165.
- BURNET, F. M. (1970): An immunological approach to ageing. *Lancet* 2, 358–360.
- CALLARD, R. E.; BASTEN, A. (1977): Immune function in aged mice. I. T-cell responsiveness using phytohaemagglutinin as a functional probe. *Cell. Immunol.* 31, 13–25.
- CAROSELLA, E. D.; MOCHANKO, K.; BRAUN, M. (1974): Rosette forming T cells in human peripheral blood at different ages. *Cell. Immunol.* 12, 323–325.
- COBLEIGH, M. A.; BRAUN, D. P.; HARRIS, J. E. (1980): Age-dependent changes in human peripheral blood B cells and T cells subsets: correlation with mitogen responsiveness. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 15, 162–174.
- DEL POZO PEREZ, M. A.; PRIETO VATUENA, J.; GONZALES GUILABER, M. I.; VELASCO ALONSO, R. (1973): Effects of age and sex on T and B lymphocyte populations in man. *Biomedicine* 19, 340–344.
- GIRARD, J. P.; PAYCHERRE, M.; CUEVAS, M.; FERNANDEZ, B. (1977): Cell-mediated immunity in ageing population. *Clin. Exp. Immunol.* 27, 85–91.
- GOIDL, E. A.; INNES, J. B.; WEKSLER, M. E. (1976): Immunological studies of ageing. II. Loss of IgG and high avidity plaque-forming cells and increased suppressor cell activity in ageing mice. *J. Exp. Med.* 144, 1037–1048.
- GOLDSCHNEIDER, I.; MCGREGOR, D. D. (1973): Anatomical distribution of T and B lymphocytes in the rat. Development of lymphocyte-specific antisera. *J. Exp. Med.* 138, 1443–1465.
- GOWANS, J. L.; MCGREGOR, D. D. (1965): The immunological activities of lymphocytes. *Progr. Allergy* 9, 1–78.
- GUPTA, S.; GOOD, R. A. (1978): Subpopulations of human T lymphocytes. III. Distribution and quantitation in peripheral blood, tonsils, bone marrow, thymus, lymph nodes, and spleen. *Cell. Immunol.* 36, 263–270.
- (1979): Subpopulations of human T lymphocytes. X. Alterations in T, B, third population cells, and T cells with receptors for immunoglobulin M (Tm) or G (Tg) in ageing humans. *J. Immunol.* 122, 1214–1219.
- HAGEN, B. (1956): Altersbestimmung bei einigen Muridenarten. *Z. Säugetierkunde* 21, 39–43.

- HAYFLICK, L. (1975): 6. Die celluläre Basis des biologischen Alterns. Verh. dtsh. Ges. Path. 59, 52–66.
- HEILMANN, E.; REX, B. (1977): Immunologische Veränderungen der Lymphocytenpopulationen mit zunehmendem Alter. Schweiz. med. Wschr. 107, 1776–1778.
- (1982): Lymphocytenpopulationen in höherem Lebensalter. In: Hämatologie im Alter. Ed. by J. BOHNEL; R. HEINZ; A. STACHER. Wien-München-Baltimore: Urban und Schwarzenberg, 34.
- INKELES, B.; INNES, J. B.; KUNTZ, M. M.; KADISH, A. S.; WEKSLER, M. E. (1977): Immunologic studies of ageing. III. Cytokinetic basis for the impaired response of lymphocytes from aged humans to plant lectins. J. Exp. Med. 145, 1176–1187.
- KAPLOW, L. S. (1965): A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow. Blood 10, 1023–1029.
- KAY, M. M. B.; MAKINODAN, T. (1976): Immunobiology of ageing. Evaluation of current status. Clin. Immunol. Immunopathol. 6, 394–413.
- KERSEY, J. H.; GAJL-PECZALSKA, K. J. (1975): T and B lymphocytes in man. A review. Am. J. Pathol. 81, 446–458.
- KRC, I.; MATOUSKOWA, I. (1982): Lymphocytenpopulationen und weitere immunologische Befunde bei alten Menschen aus einem Altersheim. In: Hämatologie im Alter. Ed. by J. BOHNEL; R. HEINZ; A. STACHER. Wien-München-Baltimore: Urban und Schwarzenberg, 35.
- KROGSRUD, R. L.; PERKINS, E. H. (1977): Age related changes in T cell function. J. Immunol. 118, 1607–1611.
- LEHMANN, E. VON; RADBRUCH, A. (1976): Wie alt werden Mäuse? Bunte Tierwelt 8, 162–164.
- MAZÁK, V. (1963): Notes on the dentition in *Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780, in the course of postnatal life. Säugetierkd. Mitt. 11, 1–10.
- REDDY, M. M.; KONG-OO, GOH. (1979): B and T lymphocytes in man. IV. Circulating B, T and "Null" lymphocytes in ageing population. J. Gerontol. 34, 5–8.
- RODEY, G. E.; GOOD, R. A.; YUNIS, E. J. (1971): Progressive loss in vitro of cellular immunity with ageing in strains of mice susceptible to autoimmune disease. Clin. Exp. Immunol. 9, 305–311.
- ROMEIS, B. (1948): Mikroskopische Technik. 15. Aufl. München: R. Oldenburg, 156–157; 320.
- ROSENTHAL, M.; STEINMANN, A. (1978): Lebensalter und Immunität. I. Lymphocytenpopulationen im peripheren Blut verschiedener Altersgruppen. Dtsch. med. Wschr. 103, 409–412.
- SCHAEFER, H.-E.; FISCHER, R. (1973): Alkalische Phosphatase als zytochemischer Parameter zur Differenzierung verschiedener Lymphocytenklassen. Die Beziehung der alkalischen Phosphataseaktivität zu T- und B-Lymphocyten bei *Clethrionomys glareolus*. Verh. dtsh. Ges. Path. 57, 293–297.
- SMITH, M. A.; EVANS, J.; STEEL, C. M. (1974): Age-related variation in proportion of circulating T cells. Lancet 2, 922–924.
- WALDORF, D. S.; WILLKENS, R. F.; DECKER, J. L. (1968): Impaired delayed hypersensitivity in ageing population. J. Am. Med. Ass. 203, 831.
- WALLACE, D. J. (1977): The biology of ageing. 1976. An overview. J. Am. Geriatr. Soc. 25, 104–111.
- WASILEWSKI, W. (1952): Untersuchungen über die Morphologie der Rötelmaus. Ann. Univ. Mariae Curie-Sklodowska Lubin Polonia. Vol. VII, 3 Sectio C, 119–211.
- WEKSLER, M. E.; HÜTTEROTH, T. H. (1974): Impaired lymphocyte function in aged humans. J. Clin. Invest. 53, 99–104.

Anschrift der Verfasser: Dr. R. BUDDÉ, Prof. Dr. H.-E. SCHAEFER, Prof. Dr. R. FISCHER; Pathologisches Institut; Universität Köln, Joseph-Stelzmann-Str. 9; D-5000 Köln 41